治療老年癡呆症中藥之研究趨勢

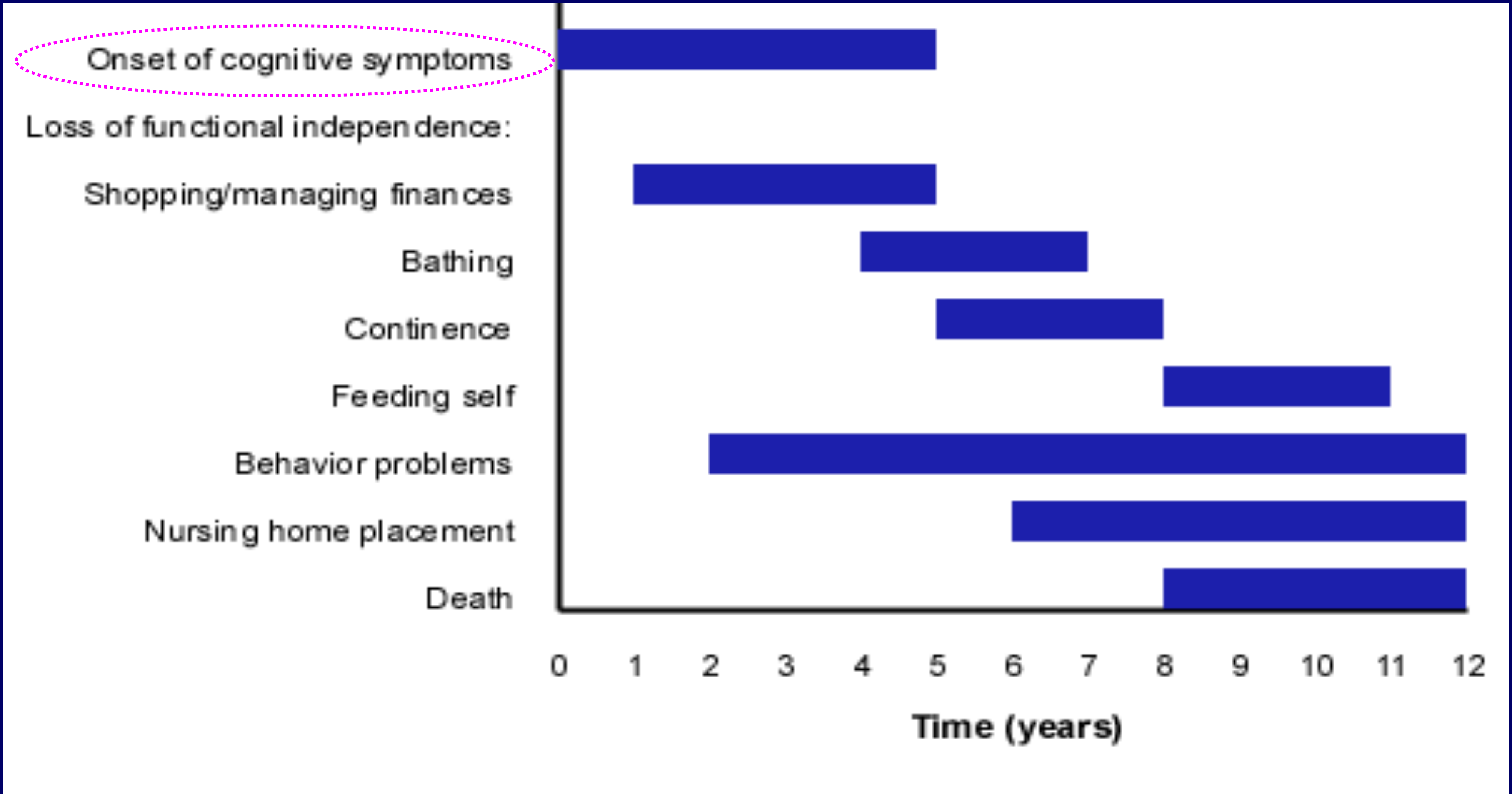
謝明村

中國醫藥大學 中國藥學研究所

老年癡呆症

- 係指一群60歲以上罹患漸進性智能減退之老年人
  - 記憶能力障礙
  - 語言能力障礙
  - 情緒失常
  - 個人居家生活能力失常
  - 社會群體關係失常

痴呆症之病症時程


Onset of cognitive symptoms
Loss of functional independence:
Shopping/managing finances
Bathing
Continence
Feeding self
Behavior problems
Nursing home placement
Death
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
Time (years)

癡呆、健忘及失憶

	痴呆 （Dementia）	健忘 （Amnesia）	失憶 （Forgotten）
定義	又稱『失智』 腦機能逐漸退化之疾病	對事物遺忘，無法再記取	對事物忘記，但可經由訓練而記得
分類	退化性痴呆（阿爾滋海默氏症） 腦血管性痴呆（多發性中風） 假性癡呆（憂鬱症）	進行性健忘（痴呆初期） （Anterograde amnesia） 退行性健忘（痴呆末期） （Retrograde amnesia）	無
治療	退化性痴呆：tacrine 腦血管性痴呆：propentofylline	如前	智能訓練， 不需治療

健忘症與癡呆症

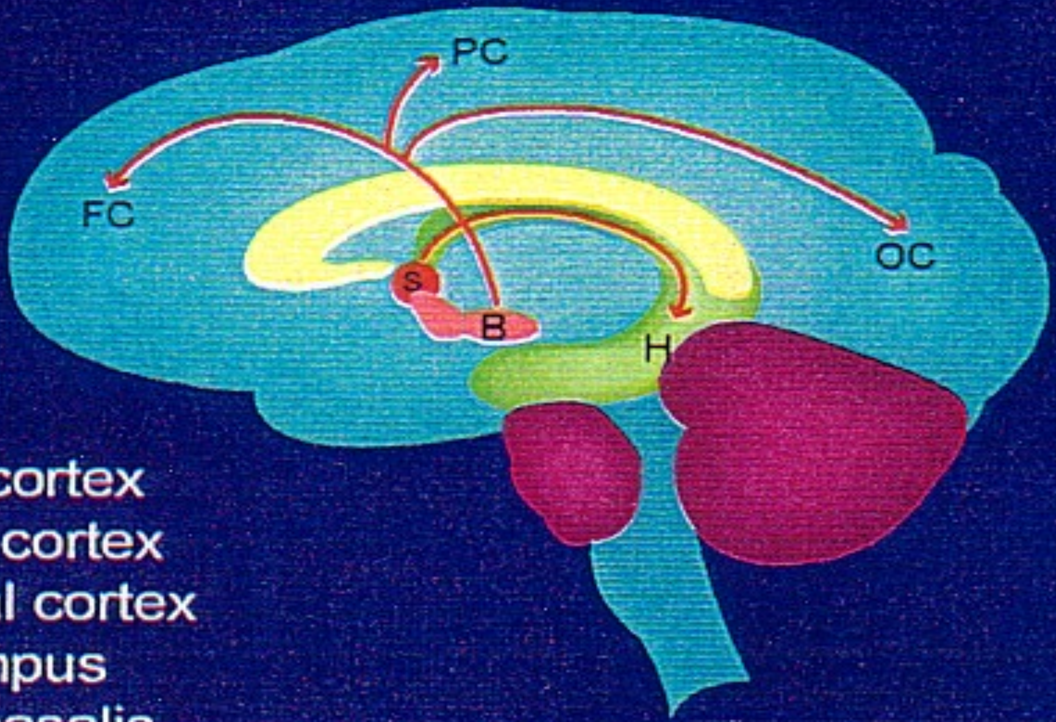
- 進行性健忘症（anterograde amnesia）
  - 對剛學習之事務無法記得
  - 65歲以下之癡呆症
- 退行性健忘症（retrograde amnesia）
  - 對以前經驗之事務遺忘
  - 65歲以上之癡呆症

大鼠健忘模式

動物健忘模式

- 進行性健忘〈Anterograde amnesia 〉
  - Cholinergic antagonist：scopolamine
    （Rush, Behav Neural Biol 1988）
  - Serotonin releaser：p-chloroamphetamine
    （Ogren, Acta Physiol. Scand. Suppl. 1985）
  - Dopaminergic agonist：apomorphine
    （Ichihara et al., Pharmacol Biochem Behav 1988）
- 退行性健忘〈Retrograde amnesia 〉
  - Protein synthesis inhibitor：cycloheximide

Cholinergic System Innervates Areas Associated With Memory and Learning

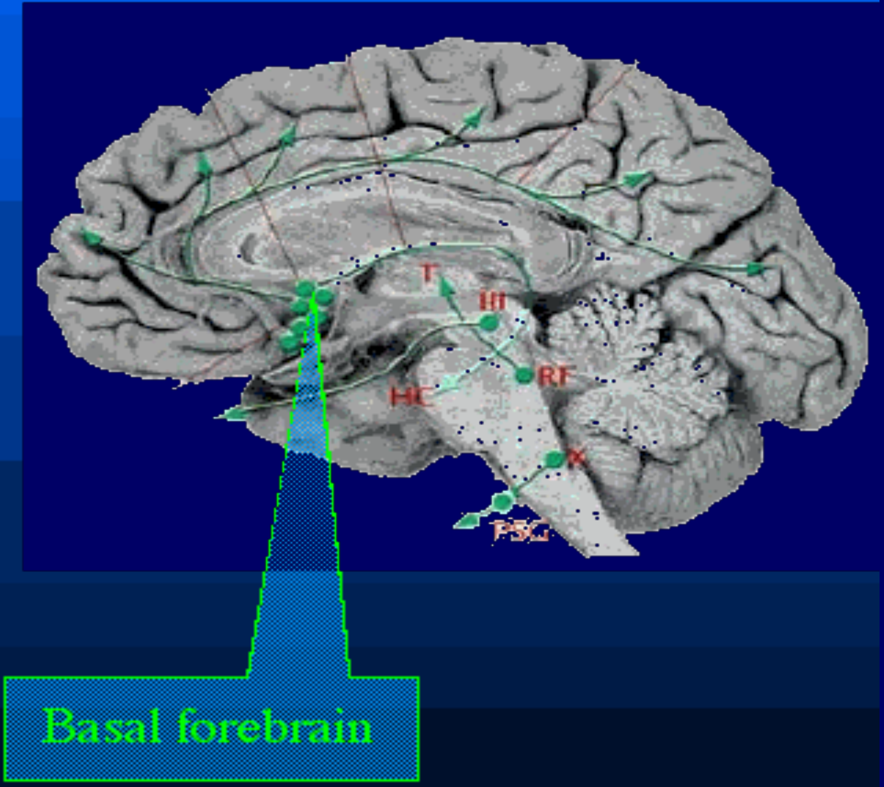


FC = Frontal cortex
PC = Parietal cortex
OC = Occipital cortex
H = Hippocampus
B = Nucleus basalis
S = Medial septal nucleus

Adapted from Coyle JT, et al. *Science*. 1983;219:1184-1190.

Neuronal Degeneration in AD

- Primary deficit : *dramatic decrease in levels of choline acetyltransferase in cortex and hippocampus.*
- Cholinergic inputs are primarily from septal nuclei and nucleus basalis of Meynert in **basal forebrain**.
- Cholinergic systems are important for learning, memory, and cognition.



智能障礙與腦內乙醯膽鹼之關係

- 正常人給予cholinergic antagonist (scopolamine) 可產生老年智能障礙之症狀。

  (Drachmann & Leavitt, Science, 1974)

- Scopolamine
  - cholinergic muscarinic receptor antagonist
  - 減少腦內cortex、hippocampus、striatum區域之acetylcholine 濃度，降低cholinergic system之活性
  - 產生擬似老年智能障礙之腦內代謝缺陷。

  (Smith, Brain Res Rev, 1988)

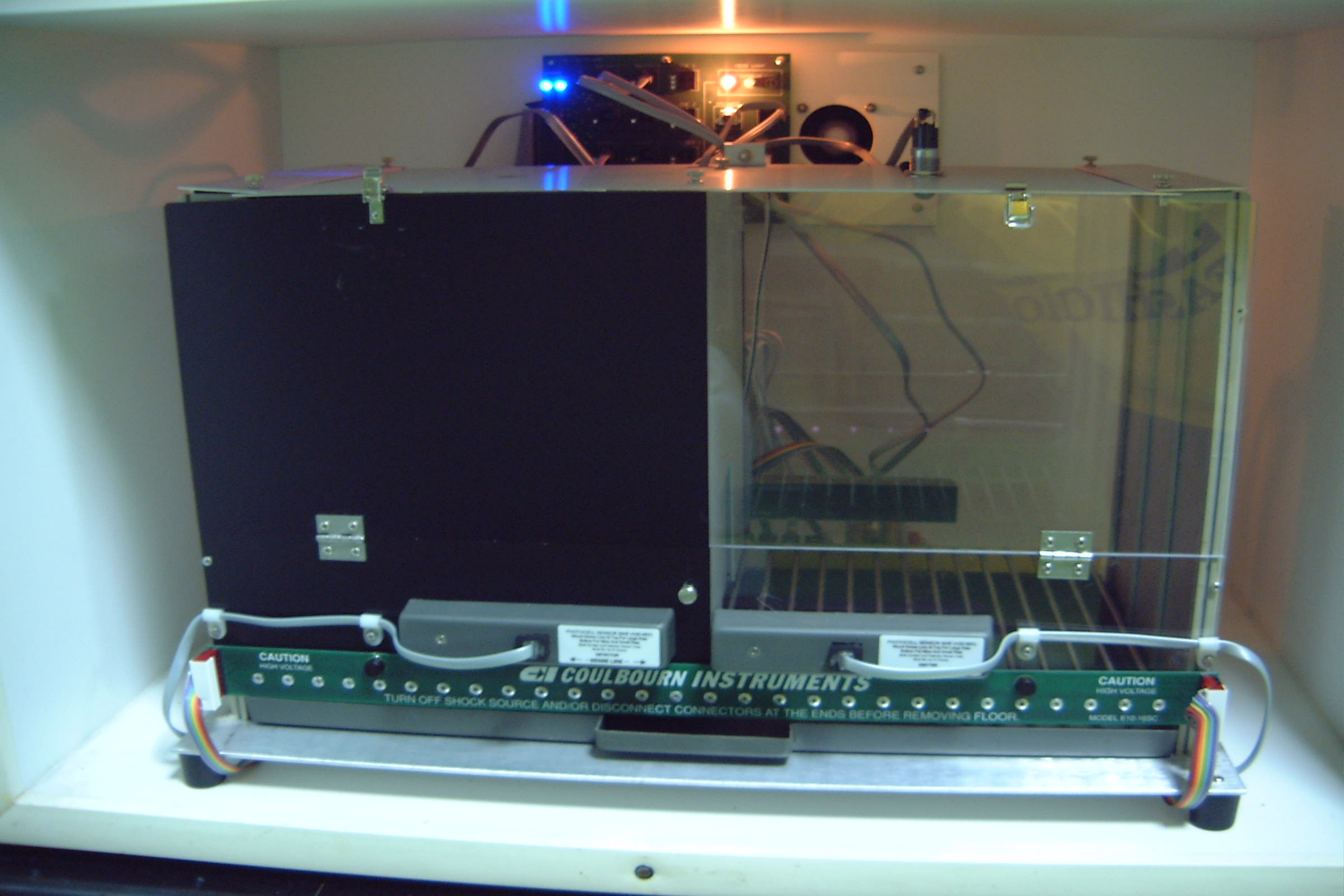
動物學習模式

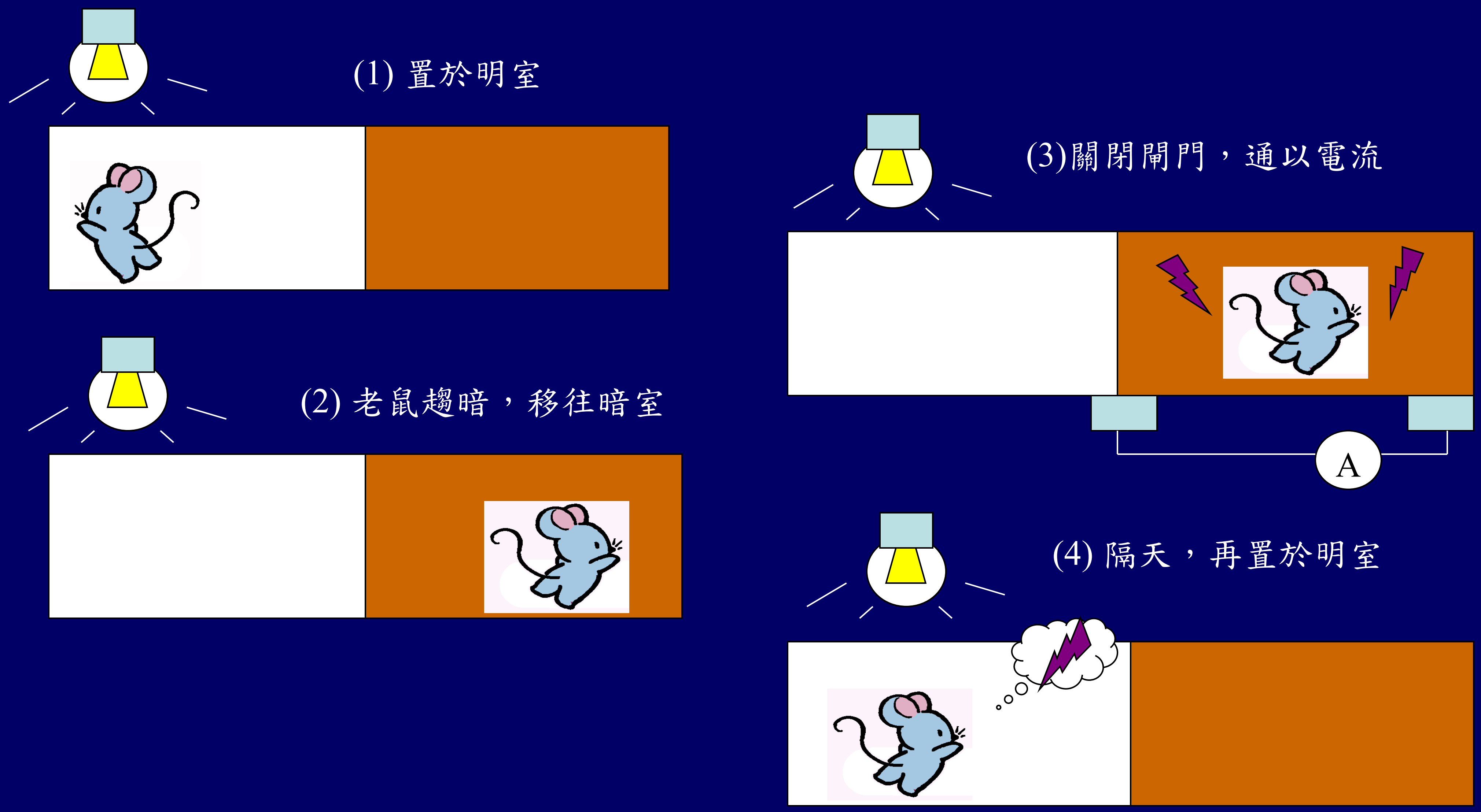
學習步驟分類	刺激原型態	動物行為	動物模式	機制
正向性強化 （Positive reinforcement）	報償 食慾性刺激	獲得食物	八臂式迷宮 （8-radial arm maze）	週邊暨中樞 hypothalamus 及 mesolimbic DA pathway 神經系統
負向性強化 （Negative reinforcement）	害怕 厭惡性刺激	迴避刺激	主動迴避反應 （Active avoidance） 水迷宮（water maze）	週邊暨中樞 hippocampus 及 amygdala 神經系統
懲罰 （Punishment）	害怕 厭惡性刺激	抑制本能	被動迴避反應 （Passive avoidance）	

被動迴避學習
Passive Avoidance Learning

- 適應期
  - 訓練前一天，將大鼠置於實驗室兩小時，再置入實驗箱內，待進入暗室後，置留10秒
- 訓練期
  - 置入明室，待進入暗室後，關閉閘門，並於底板通以電流(1 mA，2 sec)，電刺激10秒後，自暗室取出
- 測定期
  - 24小時後，再將大鼠置入明室，記錄在明室之滯留時間(Step-through latency)
- 評定標準
  - 明室滯留時間超過5分鐘，則稱學習記憶能力正常

(Worms et al., Psychopharmacology, 1989)

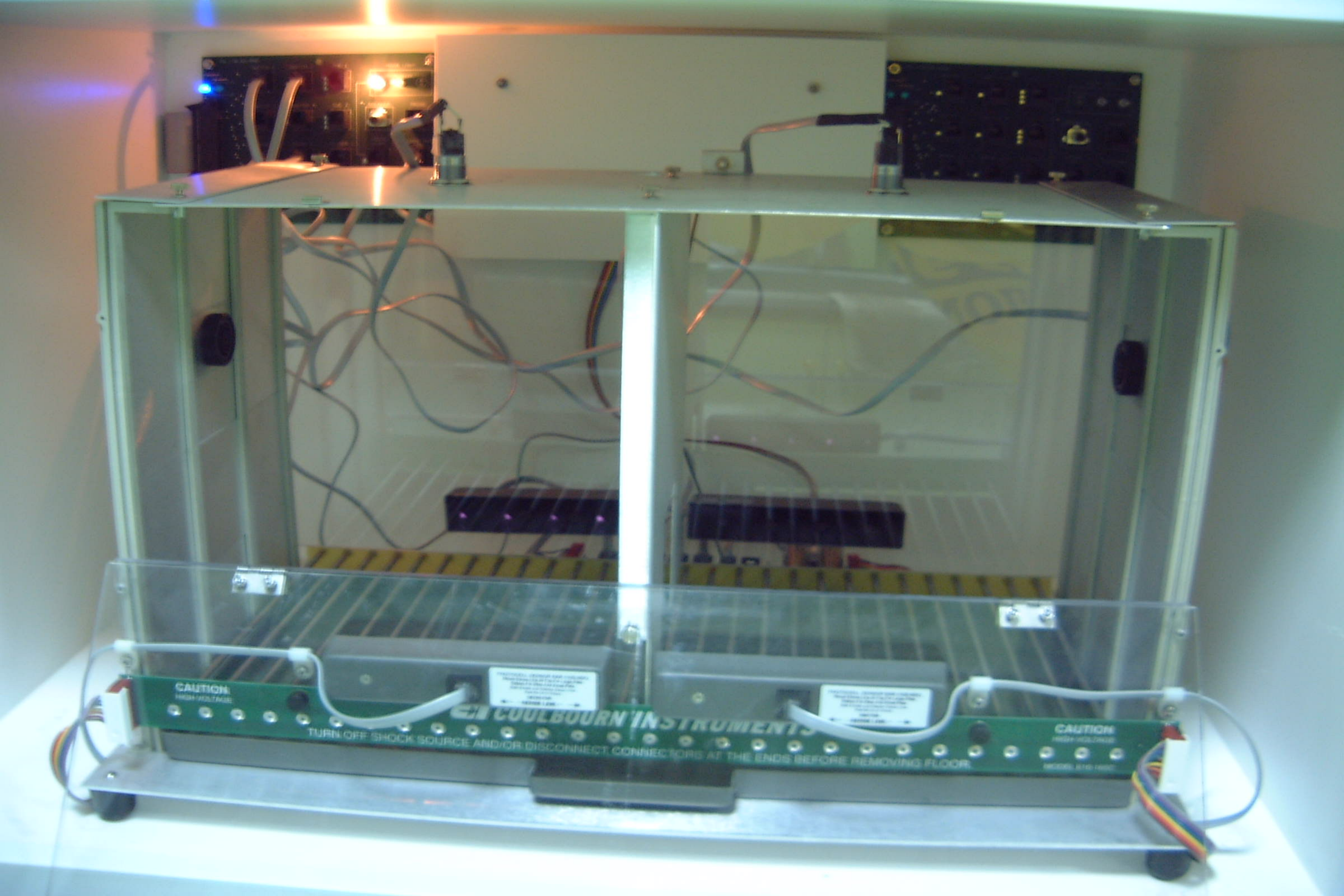

CAUTION
HIGH VOLTAGE
COULBOURN INSTRUMENTS
TURN OFF SHOCK SOURCE AND/OR DISCONNECT CONNECTORS AT THE ENDS BEFORE REMOVING FLOOR.
CAUTION
HIGH VOLTAGE



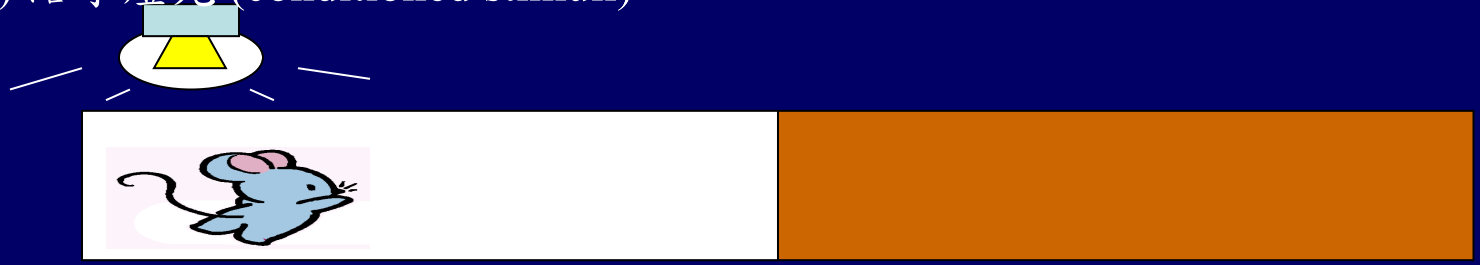
(1) 置於明室
(2) 老鼠趨暗，移往暗室
(3)關閉閘門，通以電流
A
(4) 隔天，再置於明室

主動迴避學習反應

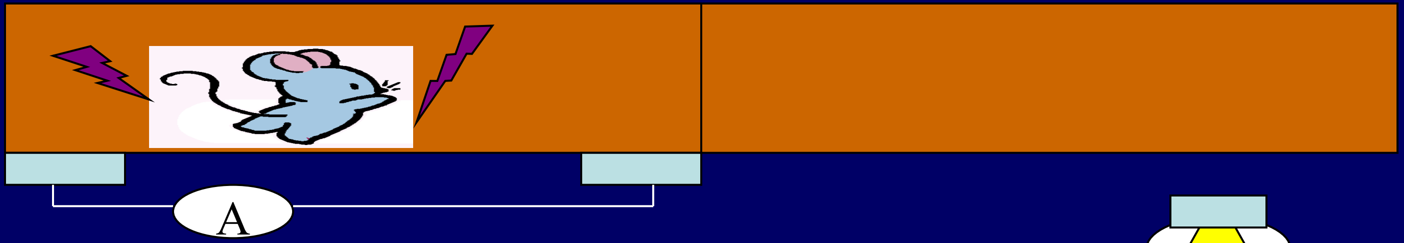
- 實驗儀器：Active avoidance computerized system
- 訓練條件：
  - 適應 30 秒鐘後，每次先給聲光 3 秒鐘後，電擊（0.8 mA）3秒
  - 每次測驗間隔 15 秒
  - 連續測驗 20 次，連續訓練 5 天
  - 7天後進行測定


CAUTION
HIGH VOLTAGE
COULBOURN INSTRUMENTS
TURN OFF SHOCK SOURCE AND/OR DISCONNECT CONNECTORS AT THE ENDS BEFORE REMOVING FLOOR
CAUTION
HIGH VOLTAGE

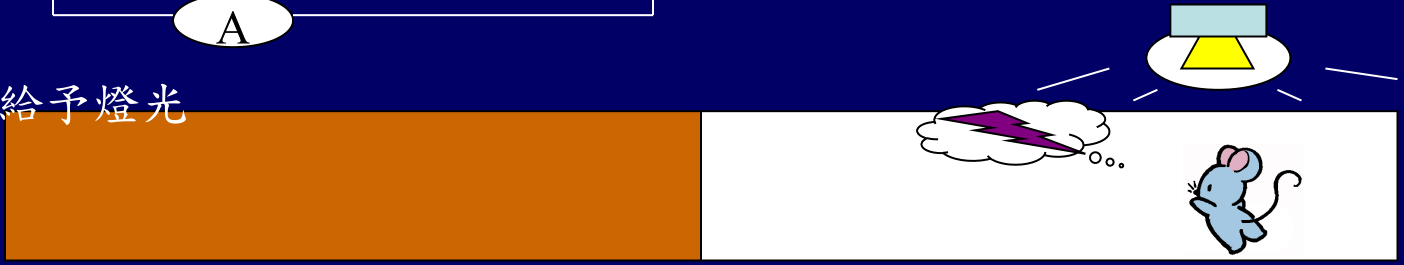
(1) 給予燈光 (conditioned stimuli)



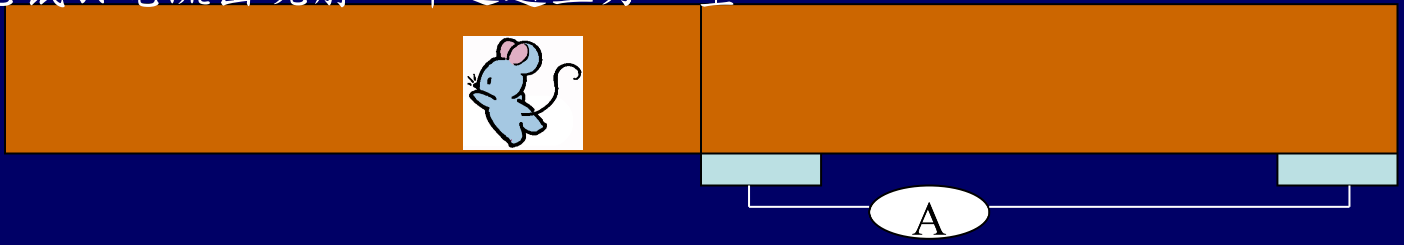
(2) 通以電流 (unconditioned stimuli)，老鼠逃往另一室



(3) 再給予燈光



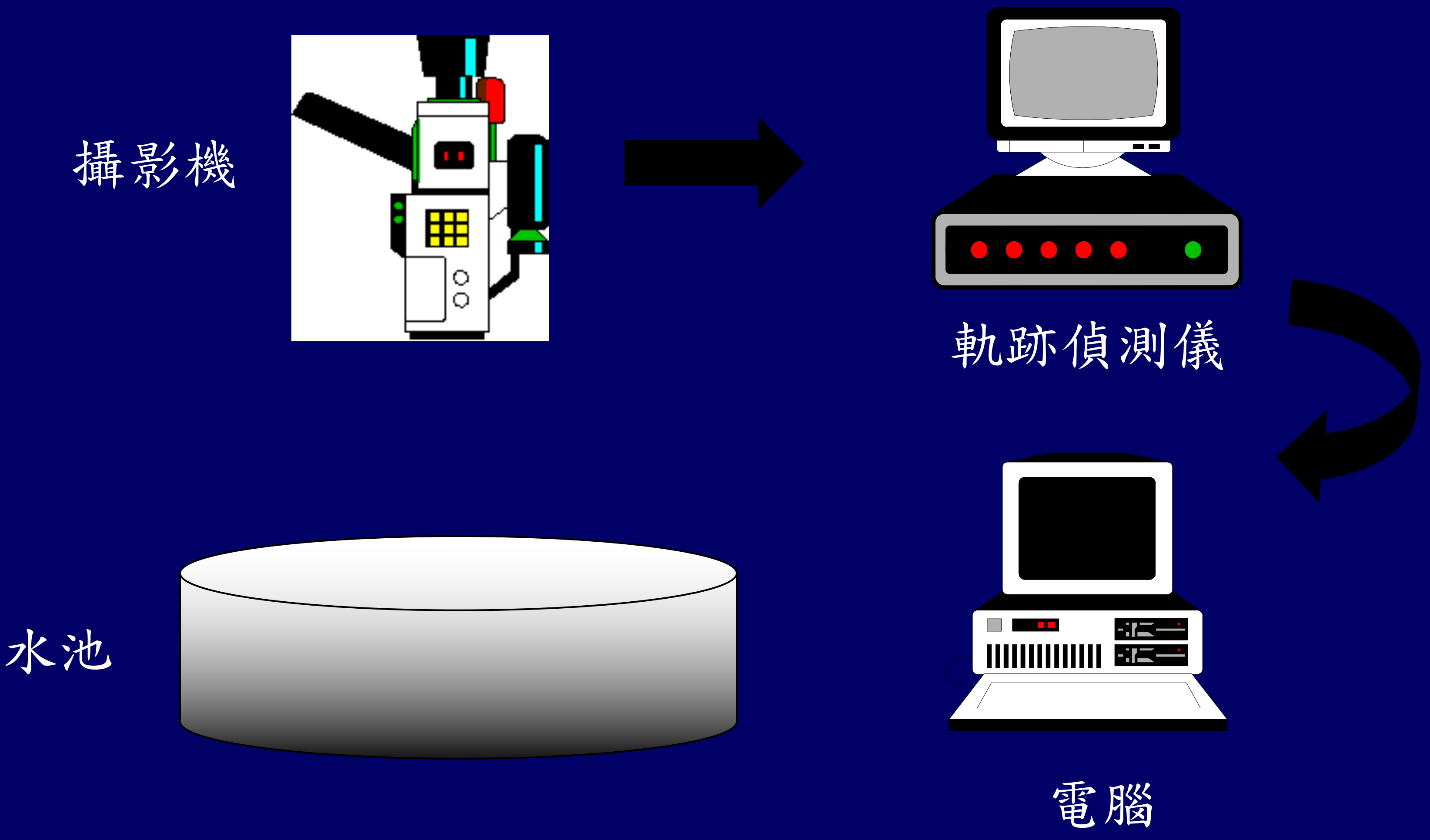
(4) 老鼠於電流出現前，即迴避至另一室

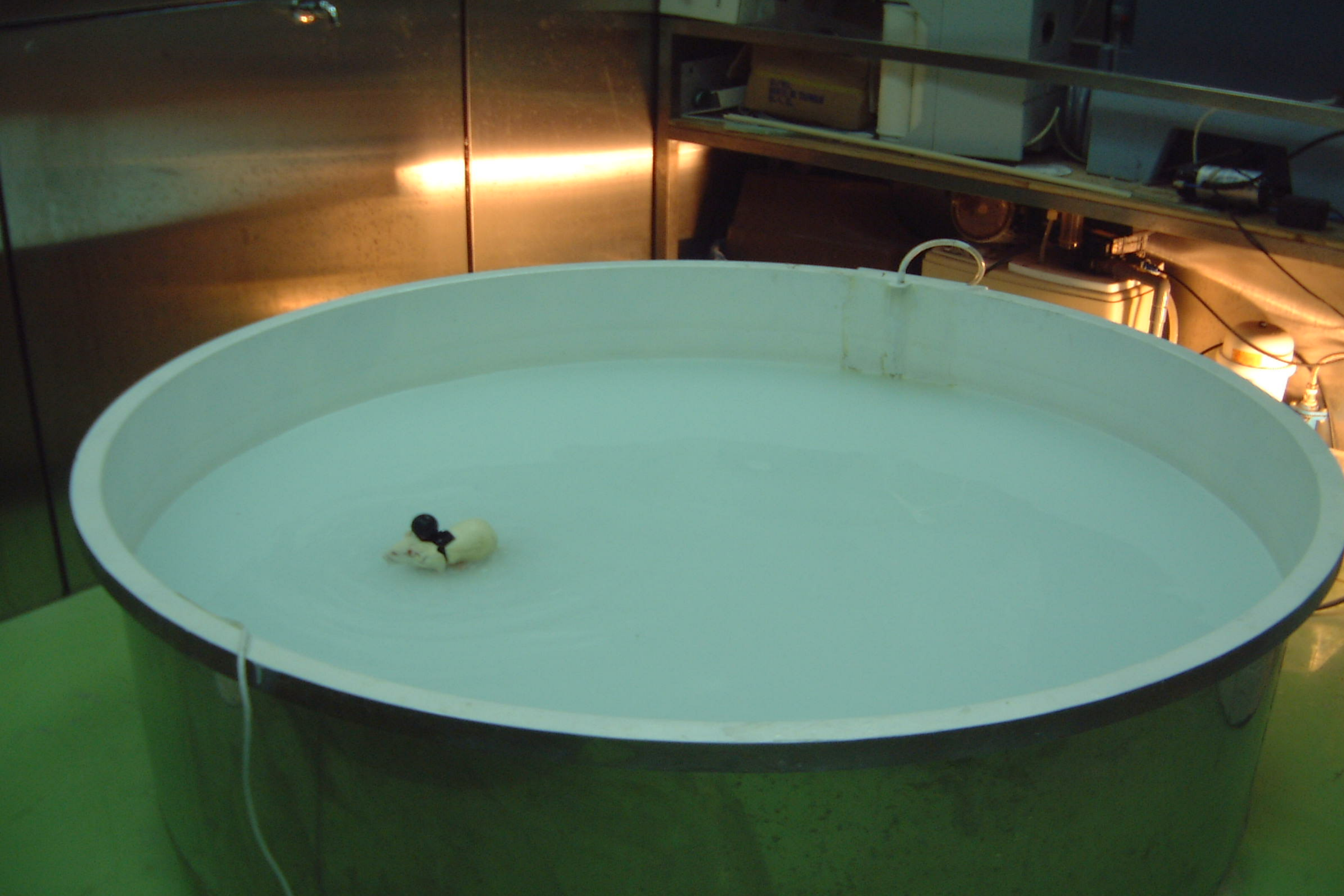


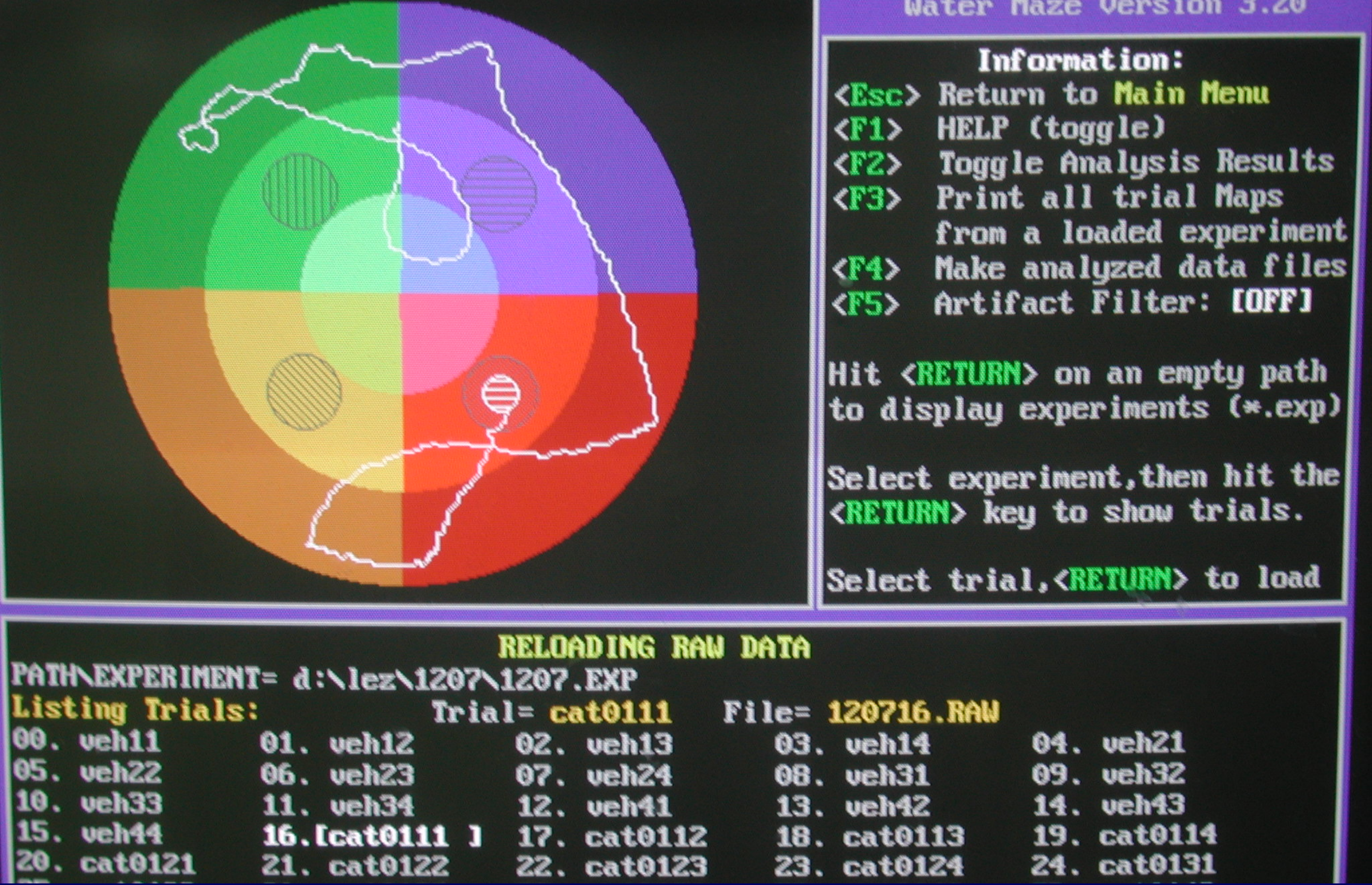
主動迴避學習反應評估項目

- 迴避（avoidance）次數
  - 聲光後稱「迴避」
  - 迴避次數越多，表學習能力越佳
- 逃避（escape）次數
  - 聲光、電後稱「逃避」
  - 逃避次數越少，表學習能力越佳

水迷宮〈Water maze〉






Water Maze Version 3.20
Information:
<Esc> Return to Main Menu
<F1> HELP (toggle)
<F2> Toggle Analysis Results
<F3> Print all trial Maps from a loaded experiment
<F4> Make analyzed data files
<F5> Artifact Filter: [OFF]
Hit <RETURN> on an empty path to display experiments (*.exp)
Select experiment,then hit the <RETURN> key to show trials.
Select trial,<RETURN> to load
RELOADING RAW DATA
PATH\EXPERIMENT= d:\lez\1207\1207.EXP
Listing Trials: Trial= cat0111 File= 120716.RAW
00. veh11 01. veh12 02. veh13 03. veh14 04. veh21
05. veh22 06. veh23 07. veh24 08. veh31 09. veh32
10. veh33 11. veh34 12. veh41 13. veh42 14. veh43
15. veh44 16.[cat0111] 17. cat0112 18. cat0113 19. cat0114
20. cat0121 21. cat0122 22. cat0123 23. cat0124 24. cat0131

強志類中藥

- 神農本草經記載之『強志』類中藥共有22種：
  - 上品14種：石菖蒲、人參、黃連、木香、巴戟天、杜仲、赤芝、遠志、龍膽等
  - 中品7種：通草、淫羊藿、鹿茸等
  - 下品1種：浪蕩子
- 至（本草綱目）更添加了數種中藥如：
  - 天麻、薯蕷、香附、何首烏等

現有研究成果〈1〉

- 發現下列中藥及其活性成分具智能增強作用
  - 天麻 ⇨ *p*-hydroxybenzyl alcohol
  - 人參 ⇨ Rb_1, Re & Rg
  - 葛根 ⇨ puerarin
  - 當歸 ⇨ butylidenephthalide & ferulic acid
  - 地黃 ⇨ catalpol
  - 補骨脂 ⇨ psoralen
  - 五味子、牛膝、何首烏

現有研究成果〈2〉

- 發現下列中藥方劑具智能增強作用
  - 六味地黃丸
  - 補中益氣湯
  - 歸脾湯
  - 天王補心丹
  - 定志丸

老年癡呆症之類型

- 可逆性痴呆Reversible dementia
- 不可逆性痴呆 Irreversible dementia

可逆性癡呆之病因

- Drugs, Alcohol
- Tumors, Toxicity, Trauma to Head
- Emotions
- Infectious Disorders
- Endocrine Disorders
- Metabolic Disturbances
- Nutritional Disorders

不可逆性癡呆之病因

- Alzheimer’s dementia
- Multi-Infarct dementia
- Parkinson’s
- Lewy Body Dementia
- Huntington’s Disease
- Pick’s Disease (Frontotemperal Dementia)
- Heady Injury
- Jacob-Cruzefeldt Disease

發現

Alzheimer’s disease

- 1906年：德國神經學家 Alois Alzheimer
  →失智婦女的腦部切片
  – 神經纖維纏結（neurofibrillary tangle）
    - Tau protein
  – 老年斑（senile plaque）
    - ß-amyloid

阿茲海默症的流行病學

- 台灣 65 歲以上人口
  - 2,002,328人，占總人口8.91%

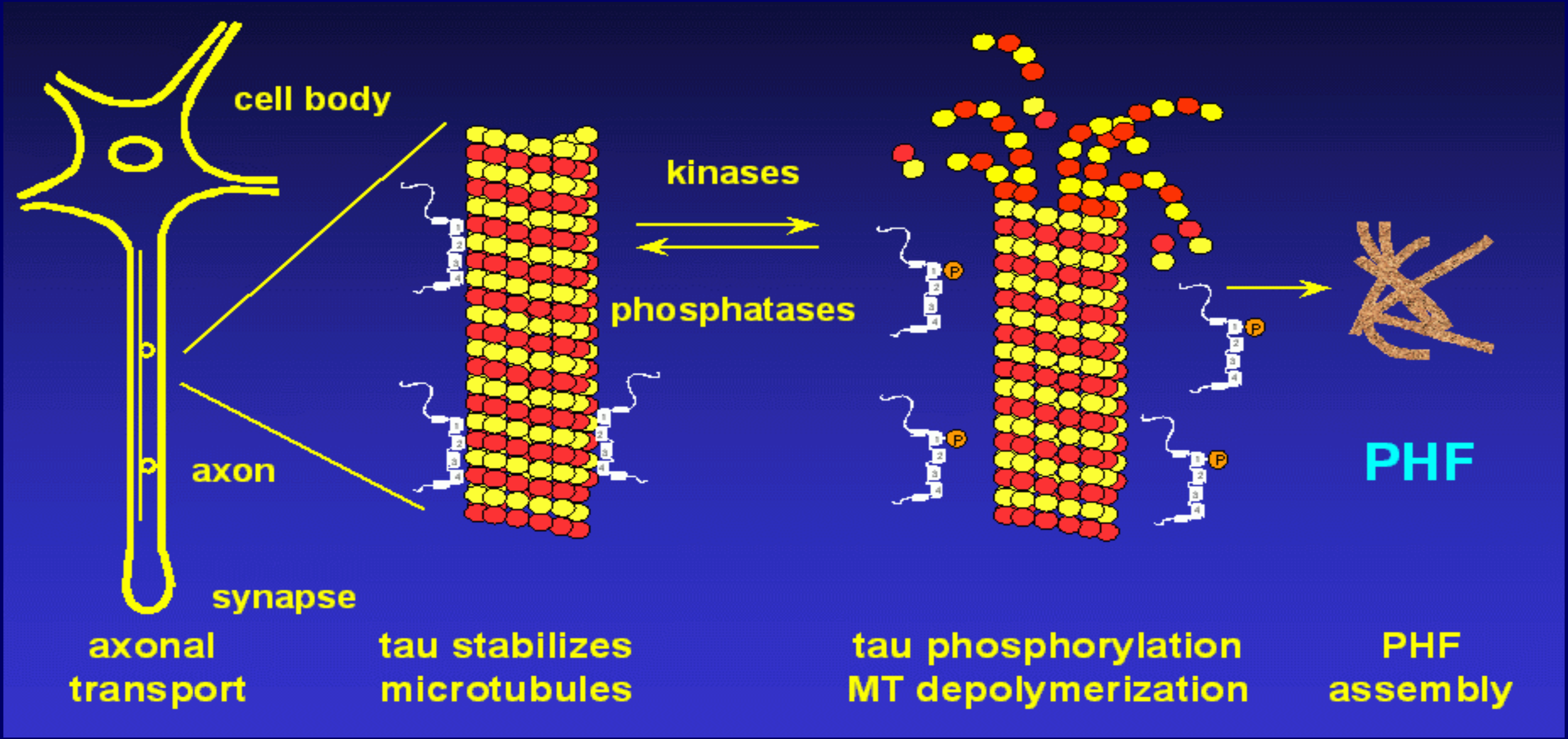
(衛生署，2002)

  - 約2.5%~5%患有失智症

    估計有5萬到10萬的失智人口

（劉秀枝，2003)

Paired Helical Filament
配對螺旋絲狀體



http://www.mpasmb-hamburg.mpg.de/taubilder.htm

Senile plaque

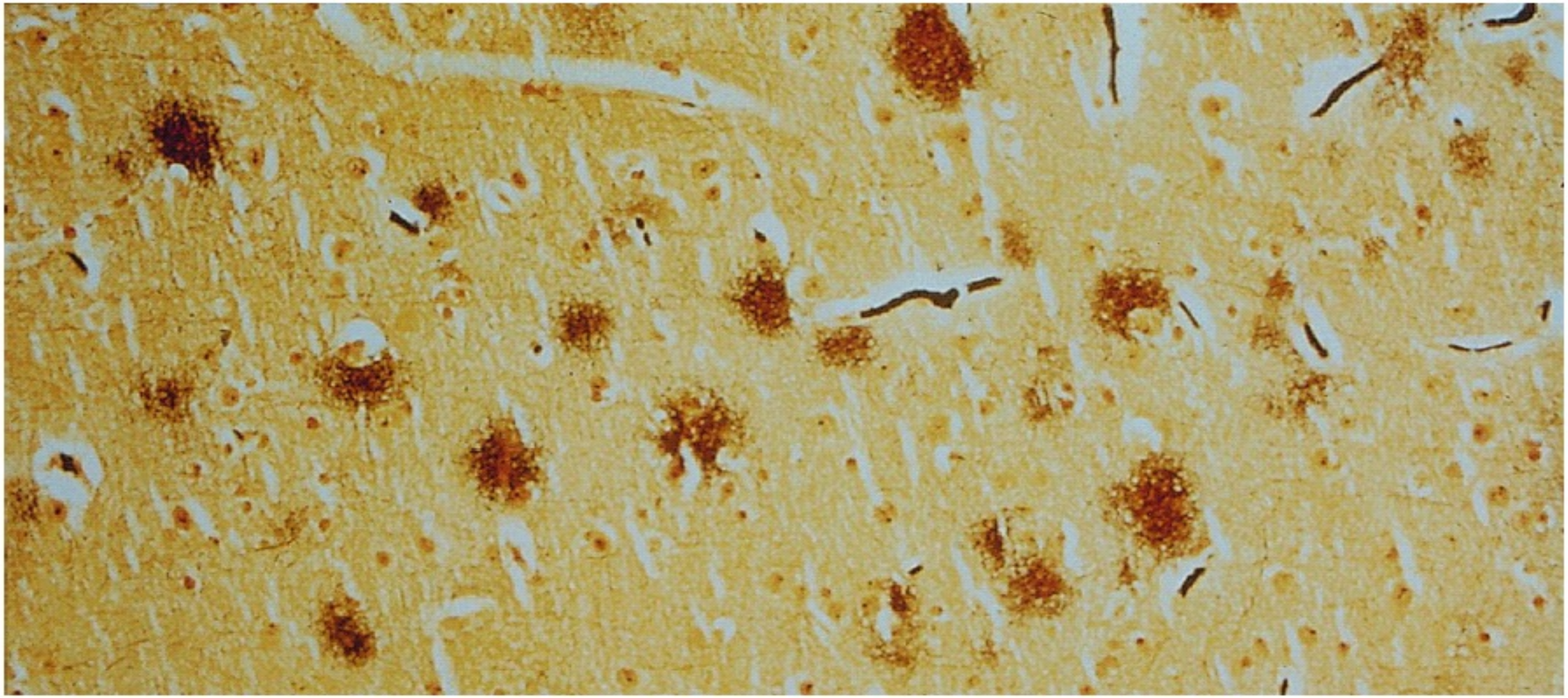
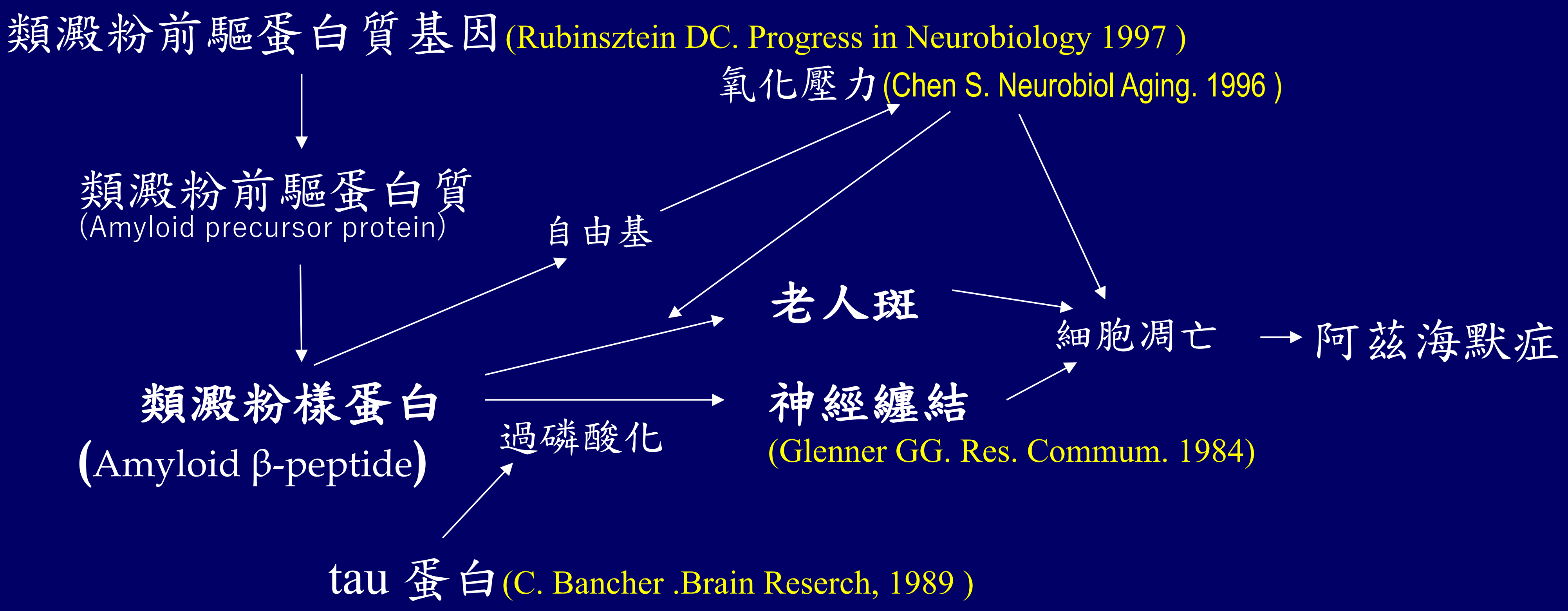


Figure 2. Deposits of amyloid-β peptide (Aβ) in the cerebral cortex as detected by Aβ-specific immunostaining (photo by Gunnar Gouras).

TEM Vol. 10, No. 7, 1999

Alzheimer's disease 致病機轉



動物痴呆模式

腦血管性痴呆模式

- *In vitro*
  - Hypoxia
  - Hypoxia and hypoglycemia
  - …
- *In vivo*
  - 雙側頸動脈結紮誘發腦缺血模式

  （Caldwell et al., Brain Res. 1997）
  - 前中腦動脈缺血再灌流模式
  - 血栓注射模式

退化性痴呆模式

- *In vitro*
  - Amyloid β-peptide-induced apoptosis
  - APP overexpression
  - Amyloid β-peptide aggregation
  - Oksaidic acid-induced PHF
- *In vivo*
  - 加速老化老鼠 (SAM-P)
  - Amyloid β-peptide intrahippocampal injection
  - Amyloid β-peptide intracisternal infusion

  （Tanaka et al., Eur J Pharmacol 1998）
  - APPsw 基因轉殖鼠
  - hyperphosphorylated tau

Amyloid β-peptide 神經毒性

氧化壓力

(Xiao XQ. *J. Neurosci. Res*. 2000)

↓

細胞凋亡

(Guo Q. *J. Neurosci. Res.* 1999)

↓

學習記憶障礙

（Tanaka et al., Eur J Pharmacol 1998）

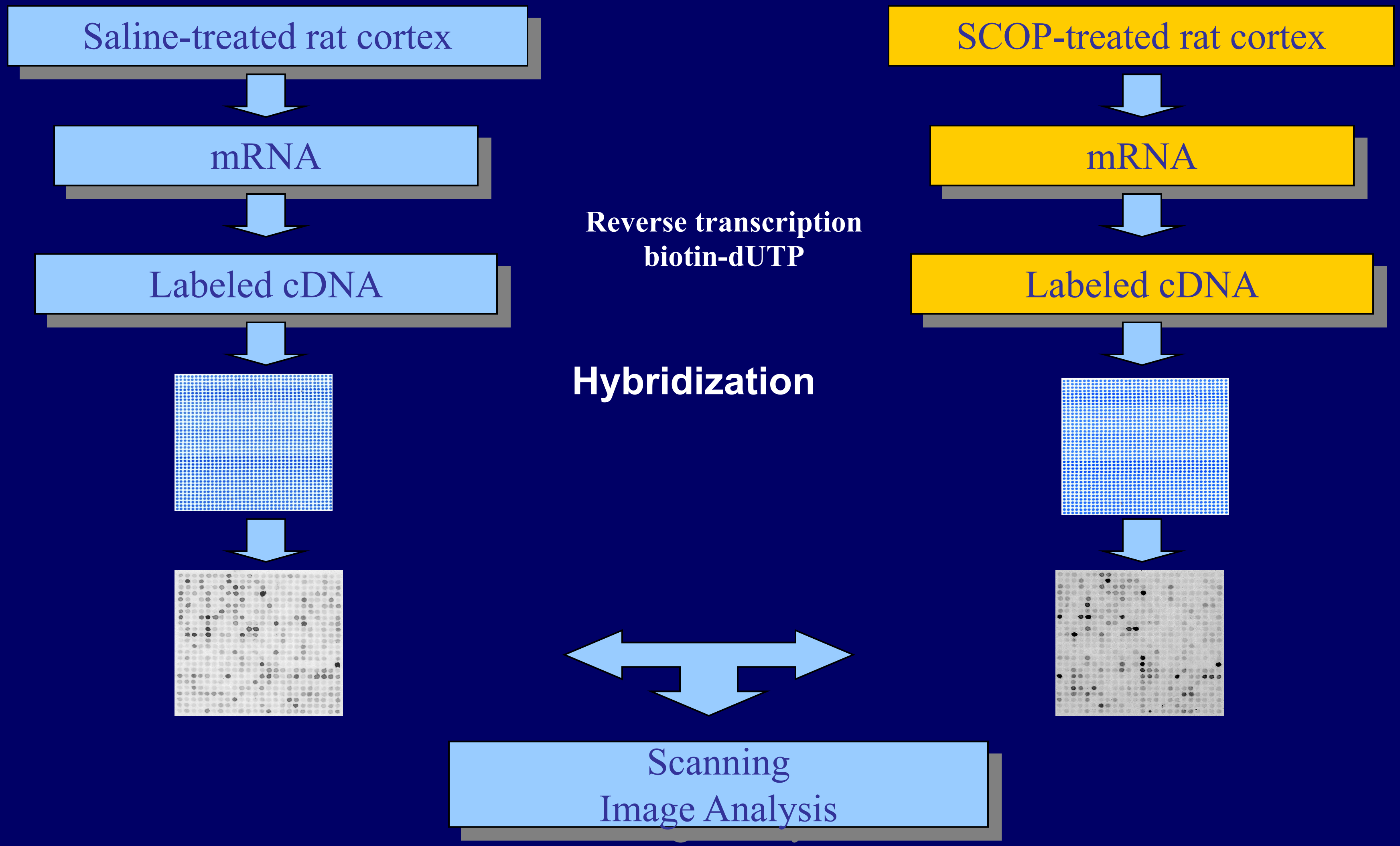
阿茲海默症之相關基因

Protein	Chromosome Location
Tau	17
β APP	21
Presenilin 1	14
Presenilin 2	1
ApoE4	19

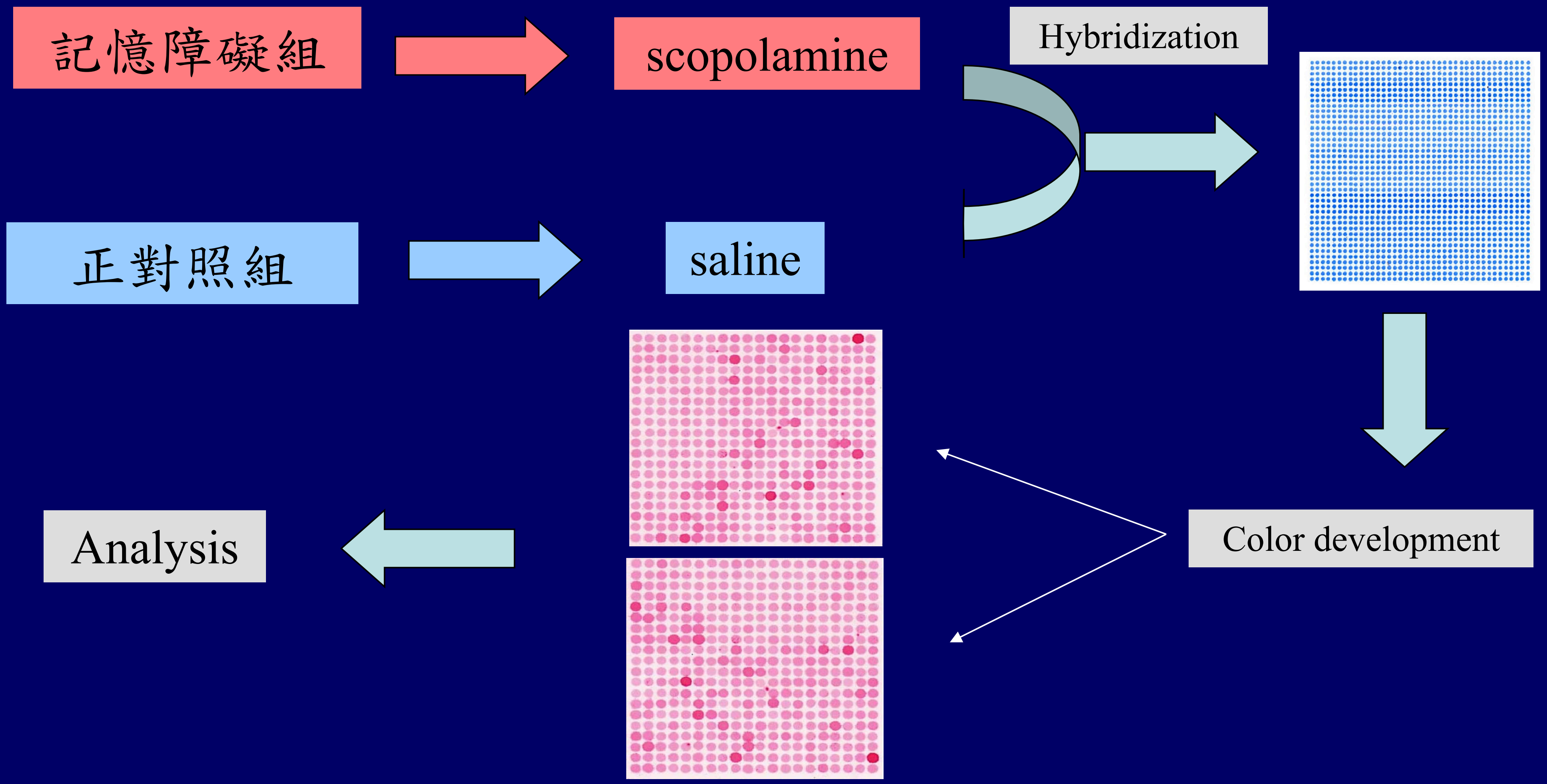
SCOP 誘發健忘之相關基因

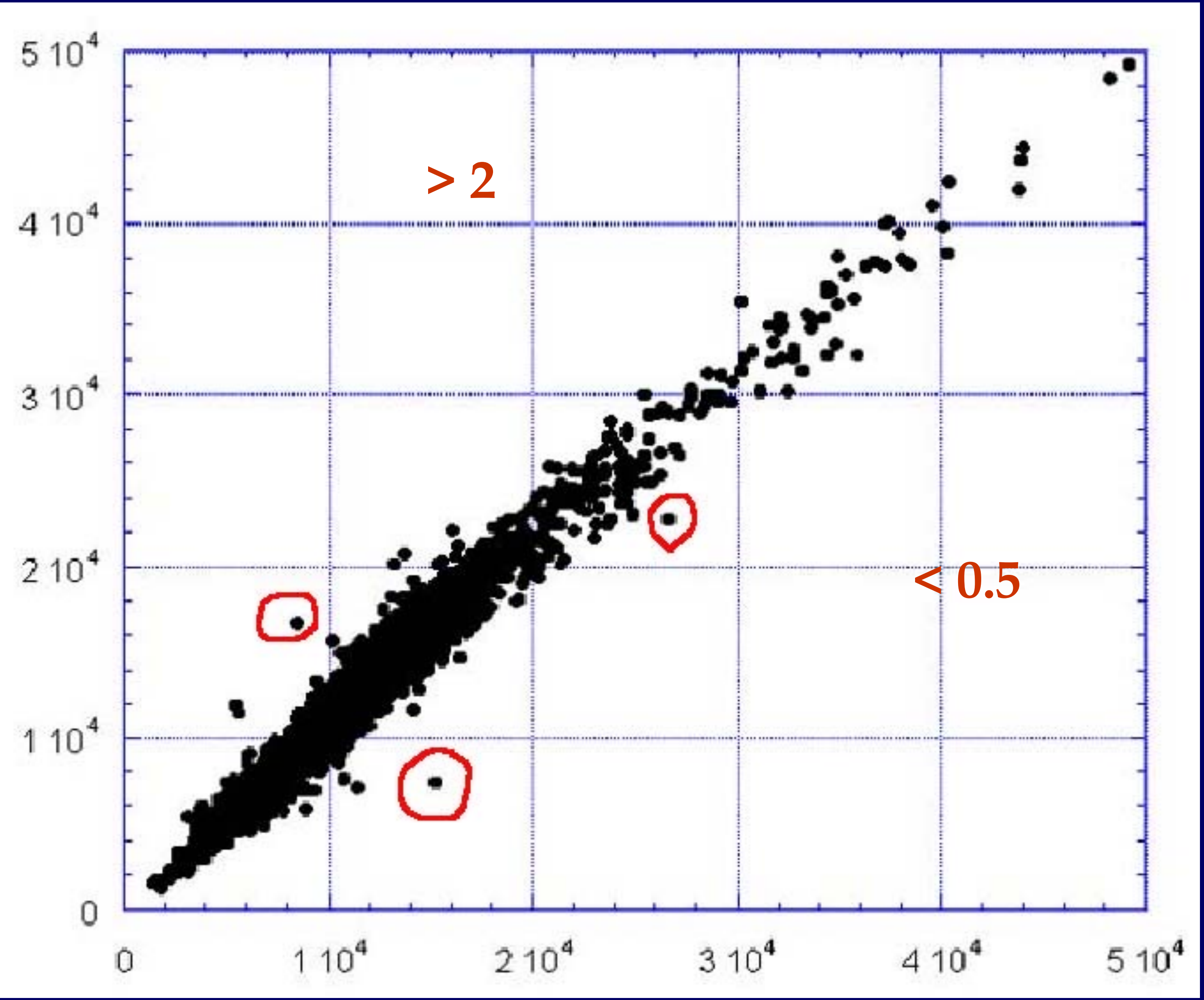
健忘與痴呆之相關性

動物健忘模式基因分析流程



實驗設計與方法

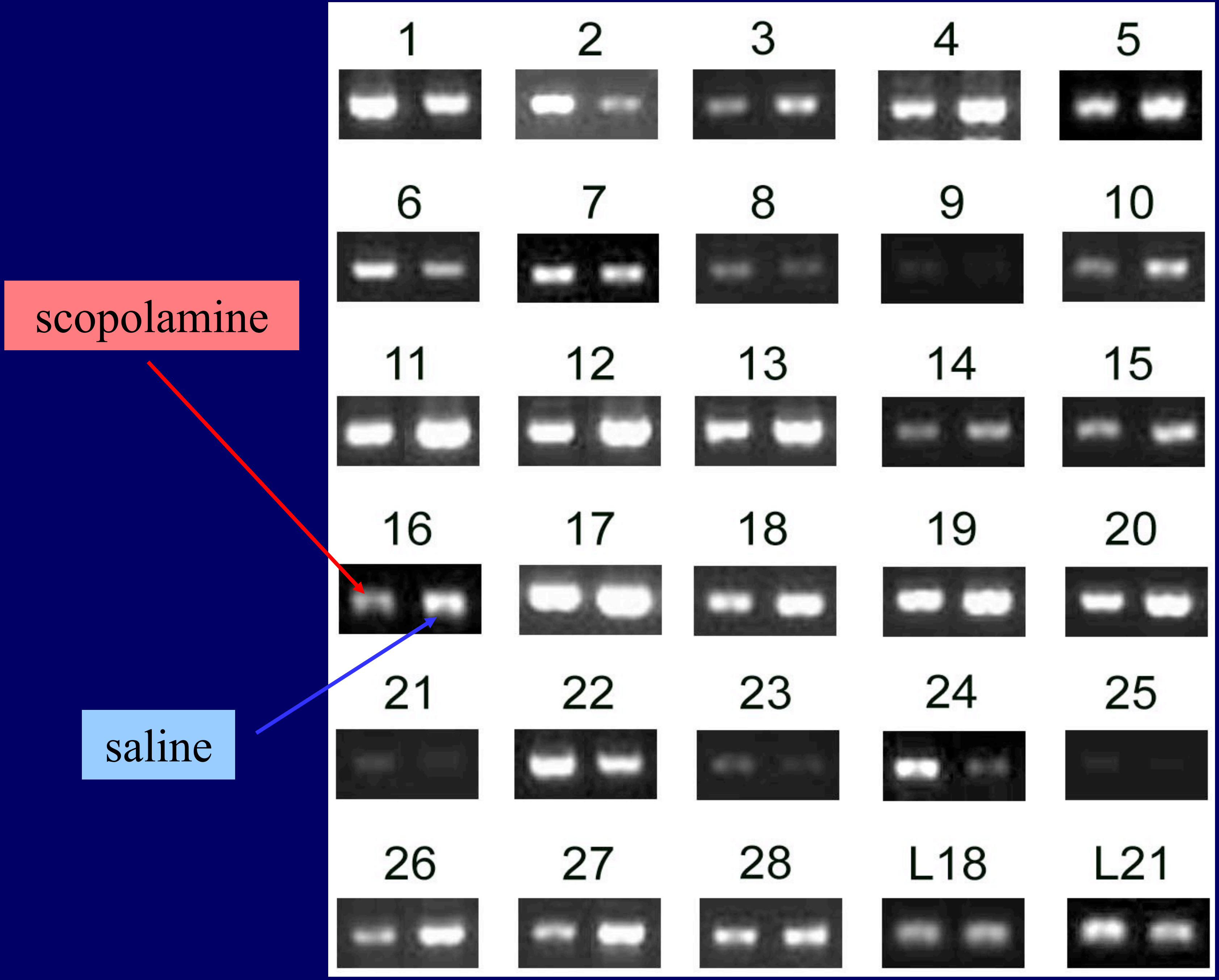

記憶障礙組
scopolamine
Hybridization
正對照組
saline
Color development
Analysis



5 10^4
4 10^4
3 10^4
2 10^4
1 10^4
0
0
1 10^4
2 10^4
3 10^4
4 10^4
5 10^4
> 2
< 0.5

RT-PCR之再確認

- 以RT-PCR加以確認基因晶片所得的結果
- 以ribosomal protein L21 和L18來作標準對照
- 得到**28**個正確無誤的基因


scopolamine
saline
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
L18
L21

Differentially expressed genes

- Muscarinic receptor signal transduction
- Alzheimer's disease

Muscarinic receptor signal transduction

Muscarinic m1, m3, and m5 receptors → IP3

Muscarinic m2 and m4 receptors → cAMP-GEFI → Ras
Muscarinic m2 and m4 receptors → RagA

Arginase
Cytochrome c oxidase
Glutamine synthetase
→ mitochondrial dysfunction
NO·

L-type Ca (2+) channels → Muscarinic m1 receptor

Programmed cell death 4
MADD
Eukaryotic translation initiation factor-2
Endothelial differentiation sphingolipid G-protein

↓

MAP kinase

Alzheimer's disease

Amyloid β protein
Presenilin 2
Microtubule-associated protein tau
ABC transporter

→ Alzheimer's Disease

↑

Therapeutic approaches

總結

- Scopolamine 拮抗乙醯膽鹼造成乙醯膽鹼活性低下，不僅可造成動物健忘，亦發現可造成老年痴呆相關基因表達之變化
- 因此在評估中藥防治痴呆之作用上可從具影響乙醯膽鹼神經系統或調控老年痴呆相關基因表達著手

治療老年癡呆症中藥之研究開發

In vivo

- Scopolamine-induced amnesia
- Aβ-induced dementia
- APPsw Transgenic mice

Behavioral measure

Immunohistochemistry

Transmitter assay

In vitro

- Scopolamine-treated neuron cells
- Aβ-treated neuronal damage
- APP overexpression or Aβ aggregation

Cell survival

Protein and enzyme assay

Gene expression